Dott. C. Gorini

STUDI SUL VACCINO

(con due tavole litografiche)

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXVII - Fasc. VII.





ROMA
Tipografia Fratelli Centenari
Via degli Avignonesi, 30-31
Telefono 23 12
1901

DOTT. C. GORINI

STUDI SUL VACCINO

(CON DUE TAVOLE LITOGRAFICHE)

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXVII - Fasc. VII.





ROMA
TIPOGRAFIA FRATELLI CENTENARI
Via degli Avignonesi, 30-31
Telefono 23 12
1901

In lavori precedenti (1) esposi i risultati di diverse ricerche che ho istituito per indagare la natura dei corpuscoli del vaccino (*cytoryctes vaccinae* Guarnieri), dopochè alla loro comparsa nell'epitelio corneale del coniglio ebbi assegnato un valore diagnostico per controllare l'attività del vaccino Jenneriano.

In quei lavori mi ero proposto successivamente i seguenti quesiti :

1. Dappoichè con materiali non vaccinici non si ottengono corpuscoli endocellulari simili ai *cytoryctes*, quali sono le note caratteristiche dei *cytoryctes ?*

2. Dappoichè le note caratteristiche dei *cytoryctes* consistono nei rapporti di forma e di posizione che essi assumono coi nu-

(1) C. Gorini : I. *Il controllo del vaccino mediante le inoculazioni corneali.* Atti dei Laboratori della Sanità pubblica (Tip Mantellate, 1898) e Archivio per le Scienze mediche, 1898, XXIII, pag. 127.

II. *Sulle inclusioni cellulari nei focolai vaccinici corneali* ecc. Cinque note preventive presentate alla R. Accademia dei Lincei nelle sedute 1 aprile, 1 luglio e 18 novembre 1900, 6 gennaio e 3 marzo 1901, e pubblicate nei Rendiconti dell'Accademia stessa, vol. IX e X. Le medesime note sono riprodotte col corredo di due tavole litografiche nel *Centralblatt für Bakteriologie* ecc. I. Abtheil 1900, 28° Bd. pag. 233, e 1901, 29° Bd. pag. 589, e negli *Archives de Parasitologie,* 1901, IV, n. 2, pag. 240.

III. *Ricerche sul vaccino sperimentale.* Supplemento al *Policlinico,* maggio 1901.

clei epiteliali, quali relazioni passano fra i *cytorycles* Guarnieri che sono extranucleari e i corpuscoli endonuclcari che pure si osservano nei focolai vaccinici ?

3. Considerando che tanto nei focolai vaccinici quanto nei cancerosi si verifica una proliferazione epiteliale attiva ed anormale e che entrambe le malattie si suppongono dovute a parassiti protozoici, quali punti di simiglianza hanno le inclusioni cellulari vacciniche colle inclusioni cellulari dei tumori maligni ?

4. Considerando che i micetozoi sono da alcuni Autori ritenuti gli agenti dei tumori maligni, quali confronti si possono stabilire fra l' infezione vaccinica e l' infezione micetozoica della cornea ?

5. Dappoichè il virus vaccinico si mantiene attivo in glicerina, che cosa succede dei *cytorycles* conservati in glicerina ?

Senza ripetere quì i singoli risultati ottenuti da queste mie ricerche, mi limiterò a riportare la conclusione complessiva che ho creduto di poterne dedurre :

„ Sebbene gli espedienti, che ho impiegato per risolvere la questione della natura dei corpuscoli vaccinici, non abbiano raggiunto il loro scopo, tuttavia essi valsero a mettere in luce alcuni fatti i quali conducono o ad assegnare ai *cytorycles* un'origine nucleare, o a ritenere che si tratti di parassiti i quali attaccano anche i nuclei epiteliali e, in una fase del loro sviluppo, sono composti dal *cytorycles* più la zona chiara che lo circonda. „



Un altro punto sotto il quale ho voluto studiare l'argomento riguarda i *focolai vaccinici corneali iniziali.*

Che cosa si osserva in questi focolai prima della comparsa dei *cytorycles* ? Ecco il quesito che mi sono rivolto.

Non è possibile precisare dopo quanto tempo dall' inoculazione convenga esportare le cornee del coniglio per disporre di focolai che presentino già qualche alterazione, ma che siano però ancora privi di *cytorycles* ; talora questi appariscono già entro le prime 24 ore ; talora invece la cornea si conserva pressochè normale fino a 24 - 36 ore dall' innesto. Ciò varia secondo i casi

e segnatamente secondo la virulenza del vaccino impiegato e secondo l'ampiezza dell'incisione praticata.

Ripetendo però i tentativi, io ho potuto sorprendere un certo numero di focolai in fase, dirò così, *precitorictica* e rilevare in essi tre sorta principali di alterazioni:

1. Nuclei epiteliali multipli e composti, cariocinesi tipiche ed atipiche ecc.

2. Fuoruscita di cromatina dai nuclei epiteliali.

3. Comparsa di granulazioni cocciformi nelle cellule epiteliali.

Dei primi due ordini di alterazioni ho già tenuto parola in altri lavori, accennando alla loro importanza quali indizi di iperattività nucleare ed ai probabili loro rapporti coi *cytoryctes*. Qui dunque non insisterò più oltre sopra questi due fenomeni, se non per richiamare l'attenzione sul fatto che essi precedono la comparsa dei *cytoryctes* e per illustrarli con figure ancora più dimostrative delle precedenti. Vedansi infatti le figure 1, 2 e 3.

L'argomento che intendo di sviluppare più particolarmente in questa Nota riguarda invece le granulazioni cocciformi.

***

Fin dalle mie prime ricerche sugli innesti eseguiti con vaccini di varia qualità e provenienza sulla cornea dei conigli, io aveva osservato molto spesso nell'epitelio corneale, oltre alla comparsa dei classici *cytoryctes* Guarnieri, segnatamente alla periferia dei focolai vaccinici, una invasione endocellulare di piccole granulazioni che, al pari dei *cytoryctes*, si coloravano più o meno intensamente coll'ematossilina Delafield. A questo insieme di granulazioni, che potevano passare per piccoli *cytoryctes* sprovvisti di alone, io davo il nome, nelle mie annotazioni, di *polvere cromatica*.

Circa la loro natura io ero rimasto in forse, come a proposito dei *cytoryctes*, fra la teoria parassitaria e la nucleare, escludendo la teoria leucocitaria, in base al fatto che le suddette granulazioni, al pari dei *cytoryctes*, comparivano anche quando nella cornea si aveva quella reazione vaccinica che, nella mia Memoria sul controllo biologico del vaccino, ho chiamata *nor-*

male, non accompagnata da fenomeni infiammatori, e senza afflusso di leucociti nei focolai.

Senonchè in questi ultimi tempi, nello studio dei focolai iniziali, mi venne dato di accertare che quella polvere cromatica precede la comparsa dei *cytoryctes* ed è accompagnata da quelle molteplici manifestazioni di iperattività nucleare che descrissi nelle Note precedenti e che sono rappresentate nelle fig. 1, 2 e 3.

Questa constatazione fece sì che io fissassi, più che per l'addietro, la mia attenzione sopra quelle granulazioni, le quali, mentre a tutta prima sembravano formate da un solo elemento (v. fig. 1 e 2, *a*) ad un più minuto esame mi apparvero costituite da aggregati di due, tre o quattro corpiccioli cocciformi, che ricordano il modo di presentarsi dei cocchi tetrageni (vedi fig. 3, *a, a, a*). Da siffatta simiglianza mi nacque il sospetto che esse potessero essere di natura bacterica.

Mediante preparati allestiti con culture di cocchi, verifificai innanzi tutto che questi coll'ematossilina Delafield si colorano come le suddette granulazioni, tanto se il preparato è fissato alla lampada *ut more*, quanto se è fissato col sublimato acetico e poi trattato come i preparati di cornea per sezioni.

In secondo luogo, mediante prove di controllo eseguite con semplici incisioni ed anche con piccole escissioni di cornea, acquistai la convinzione che una simile invasione di corpiccioli cocciformi limitata all'epitelio e accompagnata dalle suddette alterazioni cellulari non può essere dovuta ai comuni germi estranei esistenti sulla congiuntiva normale dei conigli.

Neanche si poteva pensare che si trattasse di germi piogeni, poichè, come già dissi, la polvere cromatica compare anche nelle cornee a reazione vaccinica normale, non accompagnata dai fenomeni infiammatori, che sono appunto l'indizio di inquinazione piogenica.

Restava da supporre che le suddette granulazioni fossero il prodotto della moltiplicazione endocorneale di germi non piogeni esistenti nel materiale inoculato. E per vero io ebbi più volte occasione di constatare che il vaccino, anche quando è sufficientemente purificato da dare reazione corneale normale, mostra alle culture di contenere un numero talora molto notevole di microrganismi e particolarmente di cocco-bacteri.

***

Per chiarire la questione, bisognava verificare se, come i *cytoryctes*, così anche le granulazioni cocciformi si ottenessero col vaccino sterile.

Nel corso de' miei studi sul vaccino io ebbi a persuadermi che è molto difficile poter disporre di vaccino attivo e completamente sterile.

Debbo dire anzi che, dopo la linfa di mia preparazione che mi servì per dimostrare come la comparsa dei *cytoryctes* fosse indipendente dalla presenza di germi *coltivabili* nel vaccino, e potesse perciò valere quale indice dell'efficacia del medesimo, io non ho più avuto la fortuna di incontrare vaccini attivi sterili, sopra 53 che ne esaminai.

Mi accadde invece di avere per le mani dei vaccini i quali fertilizzavano solamente una parte delle piatte di coltura o solamente alcuni punti di una medesima piatta, mentre nel rimanente si mostravano sterili. Ciò si spiega tanto più facilmente, quando si consideri che si tratta di un materiale che non è mai perfettamente omogeneo.

Pertanto, siccome a me interessava assicurarmi della assoluta amicrobicità del materiale di innesto, così ho pensato di ricorrere al seguente espediente: impiegare quelle stesse porzioni di semente vaccinica che erano rimaste distese sulle piatte di agar in stufa a 35-37° C. per tre giorni senza fertilizzarsi. Da numerose prove fatte in precedenza mi risultava che dopo questo periodo di incubazione non compare più nessuna nuova colonia sulle piatte di vaccino; tuttavia, per escludere anche il dubbio che il cessato sviluppo fosse dovuto all'essiccamento o ad altre alterazioni del materiale nutritivo durante la permanenza in stufa, provai a trasportare la semente, rimasta sterile, sopra nuove piatte di agar fresco oppure in brodo, ma sempre con esito negativo.

È superfluo dire che l'esame delle piatte venne sempre fatto con l'aiuto del microscopio (Oc. 4, Ob. 2 Koritska).

Orbene, anche con questo materiale decisamente sterile, ottenni, agli innesti corneali, e granulazioni cocciformi e *cytoryctes*.

Allora volli sottoporre ad esame microscopico quelle stesse

porzioni di linfa che sulle piatte erano rimaste sterili e che nella cornea avevano dato esito positivo. A tal uopo, non avendo ottenuto risultati soddisfacenti dai preparati allestiti *ut more* pescando il materiale con l'ago di platino, pensai di ricorrere a dei preparati *per impressione* ottenuti mediante vetrini coprioggetti (sterilizzati) deposti e leggermente compressi sopra i punti sterili delle piatte; fissai i preparati parte alla lampada e parte nel sublimato acetico e colorai con ematossilina Delafield.

In tutti i preparati osservai i seguenti oggetti (v. fig. 4):

a) cellule ancora integre isolate od aggruppate, con nuclei in parte ancora ben conservati, in parte variamente frammentati;

b) ammassi informi di cellule disintegrate con nuclei c. s.;

c) *rarissimi* corpiccioli paranucleari (fig. 4, *c*) (presumibili *cytoryctes ?*);

d) una quantità di granulazioni cocciformi di diversa dimensione e diversamente colorate, situate vuoi entro le cellule integre, vuoi in seno agli ammassi informi. Alcune di esse, minutissime, rattrappite e tinte in giallognolo, (fig. 4, *b*) avevano tutta l'aria di essere dei cadaveri di bacteri. Altre invece più grosse, più turgide e tinte più o meno intensamente in violetto, potevano essere riguardate come cocco-batteri dotati di vitalità. Ma il fatto più notevole si è che molte di queste ultime si trovavano per l'appunto raggruppate a due, a tre, a quattro, (fig. 4, *a, a, a*) precisamente come i cocchi tetrageni e come le granulazioni cocciformi dei focolai vaccinici (fig. 3, *a, a, a*).

Laonde, ferma restando l'ipotesi che le granulazioni cocciformi dei focolai vaccinici siano di natura bacterica, appare lecito ammettere che esse derivino dalla moltiplicazione endocorneale delle forme analoghe contenute nel vaccino inoculato.

Ne verrebbe pertanto che la sterilità di un vaccino sui comuni mezzi di coltura, i quali pur si dimostrano favorevoli allo sviluppo dei soliti germi estranei del vaccino (cocchi piogeni e non piogeni, b. pseudodifterici, *b. coli*, ecc.), non autorizzerebbe a ritenerlo privo di bacteri capaci di svilupparsi nella cornea del coniglio, ossia nell'organismo animale vivente.

Resterebbe ora da decidere se si tratti di bacteri stretta-

mente parassiti i quali non si sviluppano fuori dell'organismo, oppure di parassiti non obbligati che, per la prolungata conservazione in glicerina, si sono talmente attenuati nella loro vitalità da non potersi più sviluppare nei comuni mezzi di cultura, ma di abbisognare del passaggio attraverso l'organismo vivente.

Per rispondere a questo quesito tentai più volte la cultura del raschiamento di cornee vaccinate, stemperando dei brandelli di epitelio corneale sopra piatte di agar; ma queste rimasero per lo più sterili, oppure diedero luogo allo sviluppo di qualche colonia dei cosidetti bacilli della xerosi o pseudodifterici, i quali sono abitatori normali della congiuntiva e alle inoculazioni corneali non danno effetti degni di nota (v. la mia Memoria sul controllo del vaccino).

* * *

Arrivato a questo punto mi sono domandato se i corpicciuoli cocciformi non potessero essere di altra natura dalla bacterica.

Certamente quando, come nel caso nostro, ci troviamo in presenza di alterazioni nucleari, se non si ha la conferma della cultura pura artificiale nè la possibilità di seguire lo sviluppo del supposto parassita nell'organismo vivente, e nemmanco l'aiuto di una colorazione specifica, bisogna andare ben guardinghi nel pronunciare un giudizio definitivo. Anche recentemente il Borrel (1) ci ha fatto conoscere dei corpi cocciformi appaiati e perfino in catena a mo' di streptococchi, i quali originavano dall'evoluzione di un componente normale delle cellule (*archoplasma vel idiosoma*).

In merito alla suesposta domanda, io mi limiterò dunque a far considerare: che la regolarità e la uniformità delle granulazioni cocciformi riscontrate nei focolai vaccinici iniziali e la loro presenza anche nelle cellule normali con nucleo in riposo non mi sembrano deporre in favore di un'origine cellulare,

(1) *Annales Pasteur*, 1901, XV, p. 49 (con tre tavole).

laddove una simile origine appare invece manifesta in altre granulazioni (vedi p. es. le granulazioni *x, x* nella fig. 3).

Singolare è per altro il fatto che le granulazioni cocciformi si trovino soltanto nell'epitelio, mentre sono del tutto assenti nel connettivo corneale; questa limitazione di sede, per vero più comune ai protozoi che ai bacteri, coincide con quanto si osserva circa i *cytoryctes*, e coll'opinione comunemente ammessa che il *virus* vaccinico affetti essenzialmente i tessuti epiteliali (1).

*
* *

Ordunque, pur prescindendo dalla loro natura, in quali rapporti stanno le granulazioni cocciformi coi *cytoryctes* e coll'infezione vaccinica?

Anche a proposito di questo quesito, io esporrò per ora delle semplici considerazioni, riserbandomi di ritornarci sopra, quando avrò raccolto maggior copia di osservazioni.

Riguardo ai rapporti coi *cytoryctes* vogliasi notare:

1. Che le granulazioni cocciformi precedono la comparsa dei *cytoryctes* e sono accompagnate da manifestazioni di iperattività nucleare, quali: cariocinesi tipiche e atipiche, nuclei multiformi, nuclei plurimi e composti, nuclei frammentati, nuclei provvisti di gemme o d' inclusioni, nuclei con cromatina fuoruscente, etc. (fig. 1, 2 e 3);

2. Che con la comparsa dei *cytoryctes* le granulazioni cocciformi vanno man mano diminuendo, fino a scomparire dai focolai.

Per cui, in base a questi due fatti, è tanto ammissibile che i *cytoryctes* derivino dalle granulazioni per un' ulteriore evoluzione di queste, quanto che i *cytoryctes* siano il prodotto di alterazioni nucleari determinate dalle granulazioni cocciformi.

(1) Analogamente a quanto Calmette e Guèrin dicono e raccomandano riguardo agli innesti cutanei (*Annales Pasteur*, 1901, XV, p. 161), anche negli innesti corneali i risultati macroscopici e microscopici riescono più netti e più cararatteristici quando si abbia cura di praticare incisioni superficiali interessanti il solo epitelio corneale (V. la mia Memoria sul controllo del vaccino).

Riguardo ai probabili rapporti delle granulazioni cocciformi con l' infezione vaccinica si avverta:

1. Che il metodo da me adottato offre, a mio avviso, le maggiori garanzie vuoi per fare un esauriente esame microscopico del vaccino sicuramente sterile, vuoi per acquistare la convinzione che le granulazioni cocciformi, al pari dei *cytoryctes*, sono un prodotto del vaccino attivo e non di germi estranei *coltivabili* in esso contenuti.

Evidentemente però, affinchè questo metodo possa essere attuato con profitto, bisogna poter disporre di vaccini discretamente puri o, dirò meglio, *parzialmente* sterili e ancora discretamente attivi.

Per mia esperienza, una tale associazione di qualità non è troppo frequente ad osservarsi nei vaccini di comune preparazione.

2. Che nei tre vaccini attivi di diversa provenienza che io ebbi fin qui opportunità di esaminare col metodo suaccennato, i corpiccioli cocciformi suddescritti, vi si trovavano in tal numero da poter loro attribuire l'attività di quei materiali anche in minime dosi, mentre i corpi paranucleari (presumibili *cytoryctes*) erano in una sconfortante minoranza.

3. Che in un vaccino inattivo esaminato col metodo suaccennato, non ho trovato i suddescritti corpiccioli cocciformi.

Anche qui però credo bene di avvertire che bisogna andar cauti nel considerare *inattivo* un dato vaccino; già più volte mi occorse di ottenere reazione corneale debole, ma decisamente positiva, con vaccini che erano dichiarati del tutto inefficaci sulle vitelle. (1)

Roma, dai Laboratori di Sanità Pubblica, marzo 1901.

(1) Questa è novella prova della squisitezza che presenta il metodo delle inoculazioni corneali sui conigli per il controllo biologico del vaccino; metodo di controllo che, sul metodo degli innesti cutanei sui conigli recentemente proposto da Calmette e Guèrin, offre altresì il vantaggio di verificare, oltre all'attività, anche la purezza relativa del vaccino, ossia l'assenza di germi piogeni; e a tal riguardo, esso fornisce un criterio ancor più attendibile di quello che si può ricavare dall'esame bacteriologico culturale adottato dal Paul di Vienna, poichè questo ci

Aggiunta.

Mentre correggevo le bozze, è apparso nel *Centralblatt für Bakteriologie* ecc. (1901, XXIX, pag. 921) un interessante lavoro del dottor M. Funck dell' Università di Bruxelles " *Der Vaccine - und Variolaerreger* " nel quale l'Autore assegna definitivamente il significato di agenti eziologici del vaccino alle granulazioni isolate (spore ?) e aggruppate (cisti ?) che, da Chauveau in poi, furono osservate da tutti quanti esaminarono al microscopio il pus vaccinico, ma la cui interpretazione era rimasta fin qui indecisa. Il Funck fonda il suo giudizio essenzialmente sul fatto che le presunte cisti parassitarie pescate sotto il microscopio a debole ingrandimento (AA - Oc. 2, Zeiss) da piatte di vaccino sterile e inoculate sulla cute delle vitelle danno pustole vacciniche caratteristiche e immunizzanti.

Ora io mi permetto di far notare che, se ciò bastasse, anch' io potrei dire di essere arrivato, per lo meno contempora-

indica bensì il numero e la specie di germi estranei, ma non la loro virulenza. Invece coll'innesto corneale io ho potuto accertare la presenza anche di pochi bacteri piogeni in alcuni vaccini, mentre ho potuto verificare l'innocuità di altri vaccini che pur erano ricchi di germi coltivabili, compresi gli stafilococchi aurei, verosimilmente saprofitici o patogeni avirulenti. Laonde, in base all'esperienza ulteriormente fatta, io non posso che ripetere oggi quanto scrissi nel 1898: che l'assenza di fenomeni inflammatori nei primi giorni dell'innesto corneale è un valido criterio di sufficiente purezza del vaccino. Ora egli è evidente che un responso così deciso sulla apiogenicità del vaccino non è lecito desumerlo dall'innesto cutaneo, sia per la natura del tessuto ricco di vasi e quindi soggetto a precoci infiltrazioni leucocitarie, sia per la facile inquinabilità del campo operatorio, a differenza della cornea, la quale è priva di vasi ed è egregiamente protetta dalle contaminazioni esterne (nelle numerose esperienze che ebbi occasione di eseguire con materiali asettici, non mi è mai occorso un caso di inquinamento).

E fa duopo riconoscere che, mercè la constatazione dell'apiogenicità di un vaccino, noi ci mettiamo in grado di evitare non soltanto l'impiego di vaccini insufficientemente depurati in glicerina, ma anche un inutile e dannoso invecchiamento di vaccini i quali *ab initio* fossero già abbastanza puri, per cui la prolungata conservazione in glicerina non farebbe che attenuarne la efficacia immunizzatrice.

neamente al Funck, alla soluzione del problema. Infatti, come si rileva dalla presente Nota, io ho verificato che se si tiene del vaccino per 3 giorni in stufa a 35-37° C. disteso sopra piatte d'agar e poi colle porzioni di semente che sono rimaste sterili si inoculano le cornee di coniglio, si riproduce la classica alterazione vaccinica macroscopica e microscopica. Ora, in quelle porzioni di semente, a debole ingrandimento, non si vedono altro per l'appunto che delle specie di spore isolate od aggruppate, (v. i corpi *dd* della mia figura 4, i quali corrispondono alle figure del Funck). Senonchè io ho dimostrato altresì che se di quelle porzioni di semente si allestiscono dei preparati *per impressione* da osservarsi a forte ingrandimento, appariscono anche molti altri oggetti (granulazioni cocciformi, presumibili residui di nuclei, ecc., v. la figura succitata). E allora? Quali criteri possediamo noi per attribuire un valore eziologico agli uni piuttosto che agli altri elementi?

Ma un altro fatto io ho accertato. Come è detto nel mio lavoro III, anche il raschiamento di cornee vaccinate che rimase per tre giorni disteso su piatte di agar a 35-37° C. senza fertilizzarsi, conservò la sua attività sulle cornee di coniglio. Orbene, dovrei da ciò concludere senza reticenze che i *cytoryctes* Guarnieri contenuti in quel raschiamento sono i parassiti del vaccino?

Io non mi credo autorizzato a tanto.

Lo ripeto. Quando ci troviamo in presenza di alterazioni cellulari e nucleari così svariate e profonde come quelle che si osservano nei focolai vaccinici, se non si ha la conferma della cultura pura artificiale, nè la possibilità di seguire lo sviluppo del supposto parassita nell'organismo vivente, e nemanco l'aiuto di una colorazione specifica, bisogna andare ben guardinghi nel pronunciare un giudizio definitivo.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Fig. 1, 2 e 3. — Sezioni di focolai vaccinici corneali iniziali (18-22 ore).

aaa = Granulazioni cocciformi che nelle fig. 1 e 2 sembrano formate da un solo elemento, mentre nella fig. 3 risultano composte da aggregati di due, tre, per lo più a quattro elementi (granulazioni tetragene).

bbb = Nuclei con cromatina fuoruscente.

cc = Nuclei multipli e composti.

xx = Esempio di granulazioni di diversa natura da quella delle granulazioni *aa*.

Fig. 4. — Preparato di vaccino sterile *(per impressione)*.

aaa = Granulazioni cocciformi tetragene.

b = Presumibili cadaveri bacterici.

c = Corpo paranucleare (presumibile *cytoryctes*).

ddd = Presunte forme sporozoarie di Funck.

Tutti i preparati sono colorati con ematossilina Delafield.

Tutte le figure sono eseguite al microscopio (lungh. tubo 160, oc. 4, ob. $^1/_{15}$ imm. om. Koritska).

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 4.

Fig. 5.